

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Kefir*

Kefir adalah susu fermentasi yang memiliki rasa, warna dan konsistensi yang menyerupai yoghurt dan memiliki aroma khas *yeast* (seperti tape). Kefir diperoleh melalui proses fermentasi susu pasteurisasi menggunakan starter berupa butir atau biji *kefir* (*kefir grain/ kefir granule*), yaitu butiran-butiran putih atau krem dari kumpulan bakteri, antara lain *Streptococcus sp*, *Lactobacilli* dan beberapa jenis ragi khamir non patogen. Bakteri berperan menghasilkan asam laktat dan komponen *flavor*, sedangkan ragi menghasilkan gas asam arang atau karbondioksida dan sedikit alkohol. Itulah sebabnya rasa *kefir* asam dan juga sedikit rasa alkohol dan soda, dan kombinasi karbon dioksida dan alkohol (Usmiati, 2007).

Kefir mengandung alkohol yakni sebesar 0,5 – 1,0% dan asam laktat 0,9 – 1,11%. *Kefir* juga mengandung CO₂, diasetil, asetaldehid dan hidrogen peroksida serta bakteriosin yaitu senyawa protein yang menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri sejenis (Surono dan Akzos, 2004). Komposisi dan kandungan kimiawi kefir tergantung pada susu yang digunakan sebagai bahan bakunya. Kandungan gizi kefir dapat dilihat pada Tabel 1. Standar Nasional Indonesia (SNI) kefir dapat dilihat pada Tabel 2. Standar Codex untuk susu fermentasi dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 1. Kandungan Gizi Kefir 100 gram

Zat Gizi	Jumlah	Satuan
Energi	160	kkal
Karbohidrat	8	g
Protein	14	g
Lemak	3	g
Natrium	90	mg
Kalsium	300	mg
Vitamin A	500	IU
Vitamin D	1000	IU

Sumber: (Sawitri, 2011)

Tabel 2. Standar Nasional Indonesia (SNI) Kefir

Zat Gizi	Persyaratan	Satuan
Keadaan:		
• Penampakan	Cair	-
• Bau	Normal/khas	-
• Rasa	Asam/khas	-
• Homogenitas	Homogen	-
Lemak (b/b)	Min 0,6 maks 0,5	%
Padatan susu tanpa lemak (b/b)	Min 3,0	%
Protein (b/b)	Min 1,0	%
Abu (b/b)	Maks 1,0	%
Keasaman tertitrasi (asam laktat) (b/b)	0,2-0,9	%
Cemaran logam		
• Timbal (Pb)	Maks 0,02	mg/kg
• Merkuri (Hg)	Maks 0,03	mg/kg
Cemaran arsen (As)	Maks 0,1	mg/kg
Cemaran mikroba		
• Bakteri <i>coliform</i>	Maks 10	APM/ml
• <i>Salmonella sp</i> /25 ml	Negatif	-
• <i>Listeria monocytogenes</i> /25 ml	Negatif	-
BAL	Min 1 x 10 ⁶	CFU/ml

Sumber: Standar Nasional Indonesia (SNI) 7552:2009

Tabel 3. Standar Codex untuk Susu Fermentasi

Zat Gizi	Jumlah	Satuan
Protein (b/b)	Min 2,7	%
Lemak (b/b)	> 10	%
Keasaman tertitrasi (b/b)	Min 0,6	%
BAL	Min 1 x 10 ⁷	CFU/ml
Yeast	Min 1 x 10 ⁴	CFU/ml

Sumber: *Codex Standard for Fermented Milks* : Codex Stan 243-2003

2.2 *Kefir Grains*

Kefir grains atau biasa disebut dengan sebutan bibit *kefir* merupakan starter yang digunakan dalam proses fermentasi susu menjadi *kefir*. *Kefir grains* biasanya memiliki bentuk granula-granula yang tidak beraturan dan berukuran 2 – 3 cm atau seperti biji gandum dan berwarna keputih-putihan atau kekuningan. Struktur *kefir grains* yaitu berlipat-lipat pada bagian permukaannya, dan merupakan hasil penebalan berbagai mikroorganisme (Sawitri, 2011). Gambar grains kefir dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. *Kefir Grains* (Sawitri, 2011)

Kultur starter *kefir* disebut butiran *kefir* atau *kefir grains*, mengandung mikroba yang terdiri dari bakteri dan khamir yang masing-masing mempunyai peran dalam pembentukan citarasa dan struktur *kefir*. Bakteri di dalamnya menyebabkan terjadinya asam sedangkan khamir menghasilkan alkohol dan CO₂ pada proses fermentasi. Komposisi mikroba dalam butiran *kefir* dapat bervariasi sehingga hasil akhir *kefir* kadang mempunyai aroma yang bervariasi. Spesies mikroorganisme yang terdapat dalam *kefir grains* diantaranya *Lactococcus acidophilus*, *L. kefir*, *L. kefirgranum*, dan *L. parakefir* yang berfungsi dalam pembentukan asam laktat dari laktosa. *Lactobacillus kefirianofaciens* sebagai pembentuk lendir (matriks butiran *kefir*). *Leuconostoc sp.* membentuk diasetil dari

sitrat, dan *Candida kefir* pembentuk etanol dan karbon dioksida dari laktosa. Selain itu, juga terdapat *L. brevis* dan khamir yang berjenis *Torulopsis holmii* dan *Saccharomyces delbrueckii* (Hidayat, dkk., 2006).

2.3 Fermentasi Kefir

Produk kefir diproduksi dengan menggunakan starter yang sering disebut “biji kefir” (*kefir grain*) yang mengandung antara lain *L. lactis*, *L. bulgaricus*, *Streptococcus lactis*, *S. cremoris* dan khamir/ragi yang dapat memfermentasi laktosa seperti *Kluyveromyces sp.*, *Torula sp.* dan *Saccharomyces cereviceae* dan *Sc. calbergensis*. Proses fermentasi dilakukan pada suhu 20-25°C selama 24 jam atau sampai pH 4 tercapai. Tahap pematangan (15-20 jam pada suhu 8-10°C) kadang-kadang dilakukan dalam tahapan produksinya (Tamime 2007). Bakteri berperan menghasilkan asam laktat dan komponen pembentuk rasa asam, sedangkan ragi menghasilkan gas asam arang atau karbon dioksida dan sedikit alkohol. Itulah yang menyebabkan rasa kefir di samping asam juga sedikit ada rasa alkohol dan soda, yang membuat rasa kefir lebih segar, dan kombinasi karbon dioksida dan alkohol menghasilkan buih yang menciptakan karakter mendesis pada produk (Usmiati, 2007).

Bakteri asam laktat melakukan fermentasi gula melalui jalur yang berbeda yakni yang dikenal sebagai homofermentatif, heterofermentatif atau fermentasi campuran asam. Homofermentatif hanya menghasilkan asam laktat sebagai produk akhir metabolisme glukosa dengan menggunakan jalur EMP. Dalam heterofermentatif akan dibentuk komponen flavor yakni asam laktat, CO₂, dan etanol atau asetat dari gula melalui jalur fosfoketolase. Suhu optimum bagi

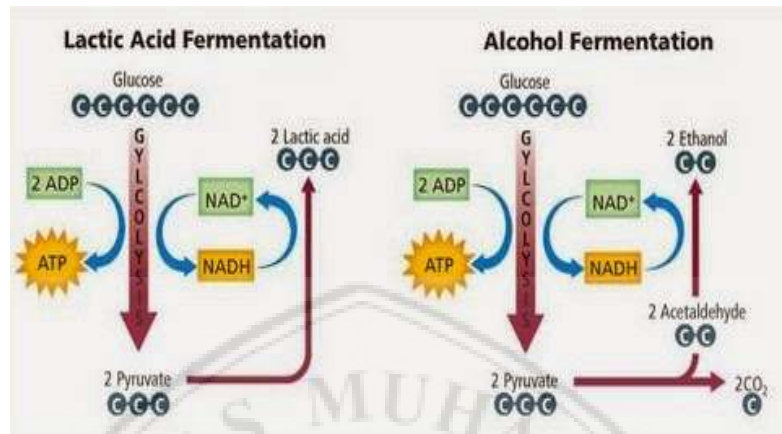
pertumbuhan BAL adalah 10⁰-45⁰ C sedangkan pH optimumnya 5,5 – 5,8 (Hidayat dkk, 2006).

Khamir pada biji kefir berperan dalam pertumbuhan beberapa nutrisi seperti asam amino dan vitamin, serta memproduksi etanol serta karbondioksida. *Lactobacillus kefir*, *Lactobacillus kefirgranum*, *Lactobacillus lactis subsp. lactis*, *Lactobacillus lactis subsp. cremoris* dan *Leuconostoc mesenteroides subsp. cremoris* telah teridentifikasi menggunakan teknik biologi molekuler tumbuh dalam kefir. Produksi asam dikontrol oleh bakteri, sedangkan khamir memproduksi alkohol (Jay *et al.* 2005).

Bakteri asam laktat mempunyai kemampuan untuk membentuk asam laktat dari metabolisme glukosa, sedangkan khamir dapat menghasilkan enzim zimase yang berfungsi merombak sukrosa menjadi monosakarida (glukosa dan fruktosa), serta enzim invertase yang mengubah glukosa menjadi alkohol (Sudarmadji, dkk., 1989). Dalam proses fermentasi glukosa akan dirombak menghasilkan asam piruvat. Asam piruvat dalam kondisi anaerob akan diuraikan oleh piruvat dekarboksilase menjadi asetaldehid, selanjutnya asetaldehid diubah oleh alkohol dehidrogenase menjadi etanol dan karbondioksida, dimana bakteri *Acetobacter* akan mengubah alkohol menjadi asetaldehid dan air, dan kemudian asetaldehid akan diubah menjadi asam asetat (Madigan, 2002 dalam Atmanegara, dkk., 2015). Diagram proses fermentasi dapat dilihat pada gambar 2.

Selama proses fermentasi akan terjadi pembentukan asam laktat, alkohol, CO₂, dan senyawa asam yang menghasilkan flavor dan aroma. Setelah fermentasi selesai, *kefir grains* didapatkan kembali melalui penyaringan. Senyawa yang dihasilkan selama fermentasi ini tidak akan ikut tersaring dalam granula kefir.

Kefir yang telah disaring dapat disimpan pada suhu 18-22° C, karena kandungan asam laktat sangat stabil pada suhu tersebut. Untuk analisa atau produksi lebih lanjut, *kefir grains* dapat dibilas dengan aquades (Hidayat, dkk. 2006).



Gambar 2. Diagram Proses Fermentasi (Sawitri, 2011)

2.4 Water Kefir

Water kefir atau *d'acqua* adalah minuman hasil fermentasi yang memiliki rasa masam dan sedikit beralkohol, jika diinkubasi semalam, berasa seperti air kelapa muda (degan), sedangkan jika diinkubasi >24 jam, rasanya seperti air buah siwalan atau legen ataupun tuak. *Water kefir* memiliki beberapa keunggulan diantaranya kadar alkohol yang dihasilkan lebih rendah dan kandungan lemak yang ada sangat sedikit jumlahnya, dibandingkan *kefir* berbahan baku susu (Supriono, 2008 dalam Mubin, 2015). Minuman fermentasi *water kefir* berasal dari *kefir grains*. *kefir grains* terbentuk dari kultur berbagai jenis *strain* bakteri sehat dan khamir, yang terdapat bersama-sama dalam matriks polisakarida yang dibuat oleh bakteri (Sampurno dan Cahyanti, 2015).

Proses fermentasi *kefir* akan dihasilkan metabolit primer dan metabolit sekunder. Metabolit primer adalah senyawa-senyawa kimia yang dihasilkan oleh mikroba dan dibutuhkan mikroba tersebut untuk pertumbuhannya, diantaranya

asam-asam organik dan alkohol. Metabolit sekunder adalah senyawa yang disintesis mikroba tetapi bukan untuk kebutuhan fisiologis pokok seperti bakteriosin dan polifenol. Pada proses fermentasi *kefir*, gula dipecah menjadi asam piruvat, kemudian asam piruvat diubah oleh khamir menjadi acetaldehida menjadi etanol. Gula oleh bakteri diubah menjadi asam laktat. Bakteri dan jamur serta beberapa macam khamir mampu memecah glukosa menjadi karbondioksida dan air yang akan menghasilkan minuman fermentasi berkarbonasi (Kunaepah, 2008).

Kefir air sebelumnya pernah dibuat menggunakan buah sari stroberi yang difermentasi selama 24 jam pada suhu 27⁰C dengan penambahan biji kefir 10% menghasilkan hasil terbaik dengan penambahan sukrosa 10% (Narita, 2016). Menurut Alsayadi 2013, fermentasi *water kefir* dari buah apel (5 gram/l), larutan gula (6,5% b/v), dan air (5% b/v) dari berat biji kefir yang difermentasi pada suhu 21⁰C selama 24 jam menunjukkan pertumbuhan optimum. Pada penelitian Gunawan, dkk (2015), variasi kismis dan sukrosa terhadap asam laktat, alkohol, dan pertumbuhan optimal kristal alga atau *water kefir* dengan penambahan gula sebesar 85 gram dan kismis 15 gram dengan dihasilkannya kadar asam total 3,27%, kadar gula reduksi 2,21 mg/ml, kadar etanol 0,55-0,62% dengan lama fermentasi 7 hari.

Banyak sekali buah yang dapat dimanfaatkan untuk pembuatan kefir air (*water kefir*), biasanya buah yang dimanfaatkan yaitu buah yang memiliki rasa asam sehingga tidak banyak disukai oleh konsumen sehingga diperlukan inovasi agar bisa dinikmati. Buah tersebut sebagai media fermentasi perlu dilakukan ekstraksi, namun dapat menurunkan sumber karbon. Untuk mengatasi hal tersebut

maka ekstrak buah perlu dilakukan penambahan gula pasir (Puspitasari, 2016). Gula pasir yang ditambahkan sebanyak 10% b/v karena mencegah terjadinya plasmolisis dan plasmoptisis serta perlakuan terbaik penelitian pendahuluan yang diperoleh dari hasil pengujian kimia (pH dan total asam), mikrobiologi (jumlah BAL dan yeast) dan organoleptik (John and Yamaki, 1994 dalam Hidayati 2018).

Kefir air atau *water kefir* dibuat dengan penambahan bakteri atau *kefir grain* yang terdiri dari bakteri dan juga khamir yang akan memberikan rasa manis dibandingkan dengan *kefir* susu. Hal tersebut dikarenakan adanya penambahan ekstrak atau sari buah pada saat fermentasi *water kefir* sehingga menyebabkan rasa dari *water kefir* khas tergantung jenis buah yang digunakan. Ekstrak atau sari buah yang digunakan biasanya yaitu anggur, cranberry, stroberi, dan buah lainnya. Kefir air juga dapat menggunakan jus nanas, sehingga akan menghasilkan rasa yang manis, asam, sedikit berkarbonasi (soda), dan bercita rasa kuat dan aroma khas (Raleigh, 2016 dalam Hidayati, 2018).

2.5 Stroberi

Stroberi merupakan salah satu tanaman buah-buahan yang mempunyai nilai ekonomi yang tinggi. Selain itu buah stroberi mempunyai kandungan gizi yang tinggi dan komposisi gizi yang cukup lengkap. Kalori sebanyak 37,00 kal, protein 0,80 g, lemak 0,50 g, karbohidrat 8,30 g, kalsium 28,00 mg, fosfor 27,00 mg, zat besi 0,80mg, vitamin A 60,00 SI, vitamin B1 0,03 mg, vitamin C 60,00 mg, air 89,90 g, bagian yang dapat dimakan 96,00% (Sunarjono, 2006).

Spesies tanaman stroberi yaitu *Fragaria Chiloensis L.* menyebar ke berbagai Negara yakni diantaranya Eropa, Amerika dan Asia. Spesies lainnya, yaitu *F.Vesca L* tersebar lebih luas dibanding spesies lainnya. Jenis stroberi yang

pertama kali masuk ke Indonesia adalah *F.vesca*. beberapa varietas stroberi introduksi yang dapat ditanam di Indonesia antara lain adalah *oso grande*, *pajero*, *selva ostara*, *tenira*, *robunda*, *bogota*, *elvira*, *grella*, *camarosa*, *chandler*, *earlibrite*, *strawberi festival*, *sweet charlie*, dan *red gantle*. Buah stroberi dapat dimanfaatkan sebagai makanan dalam keadaan segar maupun olahan. Produk olahan yang berasal dari stroberi telah banyak dikenal, misalnya sirup, selai, dodol, sari stroberi, dan jus stroberi. Selain mengandung berbagai vitamin dan mineral, buah stroberi terutama bijinya mengandung *ellagic acid* yang berkisar antara 0,43 - 4,64 mg per gram berat kering yang mampu mencegah kanker, *anthocyanin* yang berfungsi sebagai antioksidan, *catechin*, *quercetin*, dan *kaempferol* yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan (Budiman dan Saraswati, 2005).

Stroberi dapat dikonsumsi dalam keadaan segar atau menjadi produk olahan seperti, selai, manisan, sirup, dodol, yogurt, es krim dan sebagai pelengkap makanan. Dalam dunia medis, stroberi diketahui mampu meningkatkan kesehatan jantung karena memiliki nilai lemak yang rendah, mengandung vitamin C, asam folat, kalium dan antioksidan yang tinggi. Biji dan daun stroberi mengandung asam elegat yang bermanfaat untuk mengurangi resiko terserang kanker (Kesumawati, dkk., 2012).

Buah stroberi mengandung pigmen antosianin sehingga kefir yang dihasilkan memiliki warna merah yang lebih menarik jika dibandingkan kefir susu. Buah stroberi yang digunakan pada pembuatan kefir di ekstrak dengan air yang bertujuan untuk menarik nutrisi (sumber karbon) yang ada pada stroberi serta untuk menaikkan pH ekstrak agar sesuai bagi pertumbuhan starter.

Penggunaan ekstrak yang terlalu pekat dapat menyebabkan kondisi pH yang terlalu rendah sehingga kurang cocok bagi pertumbuhan mikroba starter serta masih terdapat bau langu yang berasal dari kandungan sulfur pada stroberi, sedangkan penggunaan ekstrak yang terlalu encer dapat menyebabkan penurunan kandungan nutrisi dan senyawa bioaktif pada ekstrak stroberi serta warna ekstrak yang lebih pucat (Fittivaldy, 2016).

2.6 Gula Pasir (Sukrosa)

Gula pasir merupakan salah satu karbohidrat sederhana yang sulit untuk dicerna dan diubah menjadi energi karena gula pasir mengandung jenis gula disakarida yaitu sukrosa, sehingga dapat menjadi gula darah dengan sangat cepat dan akan menjadi tidak sehat bila dikonsumsi secara berlebih (Hidayat, dkk., 2006). Kandungan Gizi gula pasir (sukrosa) dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Kandungan Gizi Gula Pasir per 100 gram

Zat Gizi	Jumlah	Satuan
Energi	364	kcal
Karbohidrat	94,0	g
Kalsium	5	mg
Fosfor	1	mg

Sumber: (Darwin, 2013)

Gula pasir (sukrosa) merupakan disakarida yang paling manis, yang terdiri dari glukosa dan fruktosa. Sumber-sumber yang terdapat di dalam antara lain: tebu (100% mengandung sukrosa), bit, dan gula nira. Sukrosa merupakan gula pasir biasa. Sukrosa adalah disakarida yang apabila dihidrolisis berubah menjadi dua molekul monosakarida yaitu glukosa dan fruktosa (Sastrohamidjojo, 2005 dalam Hidayati 2018).

Penambahan gula pasir dalam *water kefir* berfungsi sebagai sumber karbon untuk menghasilkan energi untuk aktivitas mikroba selama fermentasi

berlangsung. Energi juga berfungsi agar mikroba tetap bertahan hidup pada ekstrak stroberi karena kondisi pH yang lebih rendah dibanding susu serta adanya senyawa antioksidan pada ekstrak stroberi yang dapat menghambat pertumbuhan starter. Konsentrasi glukosa berpengaruh pada kondisi starter untuk memecahnya menjadi asam laktat dan alkohol. Menurut Winarno, (1980), menyatakan bahwa batas konsentrasi glukosa yakni $\geq 18\%$, jika melebihi batas konsentrasi tersebut starter akan berada pada kondisi plasmolisis. Plasmolisis merupakan kondisi dimana cairan sel keluar menembus membran dan mengalir ke luar sel. Sebaliknya jika konsentrasi glukosa terlalu rendah dapat menyebabkan kurang maksimalnya kinerja enzim mikroba karena kurangnya jumlah substrat atau nutrisi yang dapat dimetabolisme selama fermentasi (Fittivaldy, 2016).

